SCUOLA D'APPLICAZIONE DI SANITÀ MILITARE
Gabinetto di batteriologia diretto dal maggiore medico prof. Francesco Testi

AZIONE DELLA LUCE

SULLA

FOSFORESCENZA DEI BATTERI LUMINOSI

PER IL

Dott. GIUSEPPE RIZZUTI

TENENTE MEDICO

Estratto dal *Giornale Medico del R.° Esercito,* 1906

ENRICO VOGHERA
TIPOGRAFO DELLE LL. MM. IL RE E LA REGINA

Roma, 1906

SCUOLA D'APPLICAZIONE DI SANITÀ MILITARE
Gabinetto di batteriologia diretto dal maggiore medico prof. Francesco Testi

AZIONE DELLA LUCE

SULLA

FOSFORESCENZA DEI BATTERI LUMINOSI

PER IL

Dott. GIUSEPPE RIZZUTI

TENENTE MEDICO

Estratto dal *Giornale Medico del R.° Esercito,* 1906

ENRICO VOGHERA
TIPOGRAFO DELLE LL. MM. IL RE E LA REGINA

Roma, 1906

È nota l'influenza che la luce esercita su alcune manifestazioni di vita dei microrganismi. Numerose sono le osservazioni, che provano le varie condizioni nelle quali si svolge tale azione, come mezzo attenuante dell'attività riproduttiva, della virulenza, del potere cromogeno dei batteri, a seconda dell'intensità luminosa, della sorgente di luce, della durata d'azione e delle altre cause concomitanti di sfavorevole sviluppo.

Geissler, Dieudonné, Finsen e Strebel dimostrarono quale parte prendono nel meccanismo d'azione i vari raggi dello spettro, attribuendo alle radiazioni violette e ultraviolette il massimo potere battericida e ai raggi calorifici il minimo.

Il tenente medico Tanturri studiò nell'istituto del prof. De Giaxa, il potere battericida della luce solare, in rapporto al colore delle superfici assorbenti e notò che le superfici bianche, rosse e turchine esplicano tale potere con maggiore rapidità.

Laurent, Gessard, Galeotti, Pansini fecero altre osservazioni sul comportarsi dei pigmenti dei batteri cromogeni sotto l'influenza della luce.

Ho voluto studiare, per il primo, l'azione della luce naturale e artificiale, della luce colorata, della luce fredda e dei vari raggi dello spettro, sul potere fosforescente dei batteri luminosi.

Il bacillo adoperato nelle mie ricerche è stato il *photobacterium italicum*, recentemente isolato e descritto dai Dottori Foà e Chiappella, del laboratorio d'igiene del R. Istituto degli studi superiori di Firenze. È un bacillo che dà una fosforescenza di color verde azzurro, ten-

dente al bianco, più manifesta quando viene coltivato sul tuorlo di uovo salato. Il tuorlo d'uovo s'emulsiona a parti uguali in una soluzione di cloruro di sodio al 2 p. 100 e si sterilizza nella stufa di Koch a 80° C. per 45 minuti. La coltura diventa fosforescente dopo 24 ore ed esaminata allo spettroscopio, dà uno spettro continuo, che comincia nettamente nella linea *D* e si estende poco al di là della linea *F* di Frauenhofer, comprende cioè il giallo e il verde.

Ho fatto 4 serie di osservazioni con 3 prove per ciascuna, nei mesi di marzo, aprile e maggio, alla temperatura della stanza, riscaldata a termosifone Kornig (dai 16° ai 20° C.) Il bacillo fosforescente si sviluppa meglio alla temperatura di 15° a 27° C., non sopporta le temperature superiori a 28° C., perciò ho cercato di evitare sempre un'elevazione di temperatura maggiore, che avrebbe potuto influire al pari della luce sulla proprietà fosforescente.

Serie I. — Esposizione per 30 giorni delle colture del *photobacterium*, allestite sia in scatole Petri, che nei tubi da saggio:

a) alla luce naturale diffusa,

b) alla luce solare, nei primi 5 giorni, per mezz'ora al mattino, ponendo le colture dentro camere umide del Tindall,

c) alla luce elettrica di una lampadina ad incandescenza di 25 candele, per la durata di 3 ore nei primi 7 giorni,

d) alla luce del gas, utilizzando la luce dei 20 beccucci Bunsen del termostato Roux,

e) all'oscurità,

per le prove *b*, *c*, dopo il 5° ed il 7° giorno, le colture venivano esposte alla luce naturale diffusa.

Serie II. — Esposizione per 50 giorni delle colture di *photobacterium* nei tubi da saggio, posti in scatolette di celluloide di vario colore (1°) rosso, 2°) giallo, 3°) verde, 4°) azzurro, 5°) violetto).

a) alla luce naturale diffusa,

b) alla luce solare,

c) alla luce elettrica,

d) alla luce del gas,

come per la serie precedente.

Serie III. — Esposizione per 30 giorni delle colture disposte come nella serie II all'azione della luce fredda nella camera oscura. Come sorgente di luce fredda ho utilizzato la stessa luce della fosforescente in coltura in tuorlo d'uovo in grande scatola Petri, rinnovandola ogni

5 giorni. Tale luce come quella ch'emana la lucciola e il piroforo nottiluco, non è accompagnata, secondo il prof. Battelli da sviluppo di calore.

Serie IV. — Esposizione per 10 giorni di una coltura su tuorlo d'uovo dentro grande scatola di Petri alla luce del gas, scomposta nei suoi colori da un prisma. La scatola era collocata sul fondo di una cassetta di legno sul cui coperchio vi era una fessura che accoglieva il prisma in posizione orizzontale.

La differenza nel potere fosforescente delle colture esposte alle varie luci si può apprezzare il più delle volte ad occhio nudo dalla maggiore o minore intensità luminosa osservate nell'oscurità, ma le minime differenze si notano solo allo spettroscopio dalla varia lunghezza dello spettro di emissione. Per tale scopo ho usato lo spettroscopio di Bunsen e Kirchoff nell' Istituto di fisiologia di Firenze.

Riassumo brevemente i risultati delle varie serie di esperienze:

Serie I. — *a*) alla luce naturale la fosforescenza è evidente al 3° giorno di sviluppo e persiste fino al 30°-40° giorno. Lo spettro è continuo, tra i numeri 10.00 e 16.5 della scala fotografata sul vetro.

b) alla luce solare. La fosforescenza appare dopo 24 ore, diventa più viva dal 3° al 7° giorno e persiste sino al 20° giorno.

Lo spettro si vede nettamente tra 10.00 e 17.

c) alla luce elettrica: la fosforescenza si manifesta al 2° giorno con massimo d'intensità al 5° giorno, e persistenza fino al 30° giorno. Spettrô esteso tra 10.00 e 16.

d) alla luce del gas, la fosforescenza è evidente al 2° giorno, più intensa dal 5° al 10° giorno, s'esaurisce al 40° giorno. Spettro tra 10.00 e 15.8.

e) all'oscurità la fosforescenza appare al 6° giorno e termina verso la 2ª settimana. Lo spettro è appena visibile nel giallo, senza limiti precisabili.

Come si vede la massima fosforescenza si ha colle luci più vive, il minimo nell'oscurità.

Serie II. — È interessante in questa serie di prove, che con tutte le varie sorgenti luminose adoperate, *a*, *b*, *c*, *d*, l'effetto sul potere fosforescente è identico e costante, a seconda del colore dell'ambiente in cui si sviluppa la coltura. Così mentre il colore rosso e il violetto influenzano la fosforescenza quasi allo stesso modo, il giallo, il verde e l'azzurro agiscono in un altro: i primi due colori s'avvicinano all'azione della luce bianca e gli altri tre a quella dell'oscurità.

Le colture esposte alla luce sia naturale che artificiale nelle scatolette rosse e violette, emanano dopo 24 ore per le prove *b*, *c*, e dopo 48 ore per *a*, *d*, una bella fosforescenza azzurrognola, di colore smeraldo più brillante ai margini della patina colturale e persistente sino al 50° giorno. Lo spettro s'estende tra *D* ed *F* e cioè da 10.00 a 16.2 per il n. 1 e da 10.00 a 16.5 per il n. 5.

Le colture esposte alla luce nelle scatolette gialle, verdi e azzurre a qualunque sorgente luminosa, danno una fosforescenza più debole, appena visibile al 3° giorno, scompare dopo 20 giorni e allo spettroscopio non si riesce a determinare la lunghezza dello spettro, essendo debole. Tale fosforescenza ha tendenza al biancastro e non è brillante ai margini come pei nn. 1 e 5.

Serie III. — La fosforescenza è evidente al 5° giorno nel rosso e nel violetto, appena manifesta invece nel giallo, verde e azzurro. Lo spettro s'estende per il n. 1 tra 10.00 e 15 e per il 2 tra 10.00 e 16.

Persiste tale fosforescenza sino al 30° giorno.

Serie IV. — La fosforescenza appare dopo 48 ore, più brillante agli estremi dello spettro, sopratutto dalla parte dei raggi violetti e ultravioletti, più sbiadita nella parte mediana.

In un'ultima prova ho esposto una coltura di b. fosforescente sviluppata a luce naturale diffusa, all'azione del campo magnetico di 0,8 milliampère per tre giorni consecutivi, 15 minuti al giorno e ho notato una fosforescenza viva e persistente oltre i 40 giorni.

Lo spettro va dai nn. 10.00 ai 17.

Essendo il *photobacterium I.* secondo gli A.A. privo di potere patogeno, non ho tentato nemmeno la prova delle inoculazioni negli animali, colle colture sviluppate sotto l'influenza delle varie luci, per vedere come queste agiscono sulla virulenza.

Nel corso delle mie esperienze ho poi notato un'altra proprietà del *photobacterium I.* non ancora descritta, ed è la produzione di pigmento.

Coll'invecchiare delle colture sul tuorlo d'uovo, man mano che va diminuendo la fosforescenza, la patina culturale passa successivamente dal colorito bianco roseo al rosso mattone, indi al rosso vinoso.

Nei trapianti successivi in tuorlo d'uovo di tali colture ritorna la fosforescenza e coll'oscurarsi di questa, di nuovo si sostituisce il pigmento rosso al colore bianco roseo. Il pimento ricorda quello del prodigioso, se ne distingue per i seguenti caratteri differenziali: 1°) Non si diffonde, come qnello del prodigioso alla superficie del mezzo nutritivo, ma rimane circoscritto alla patina di coltura; sarebbe cro-

moforo. 2°) È solubile in acqua e non in alcool, nè in etere, nè in benzolo, nè in solfuro di carbonio, nè in cloroformio. 3°) Allo spettroscopio non dà una benda di assorbimento ben netta, come quella del prodigioso.

Oltre che sul tuorlo d'uovo il pigmento è meglio evidente sulla patata, dove apparisce sin dai primi giorni essendo la fosforescenza minima e passeggera. Nelle colture per infissione in gelatina, il pigmento si osserva solo in superficie, la gelatina non viene fluidificata.

La produzione di pigmento subisce anche oscillazioni sensibili, per intensità di tono, per durata nella cultura, a seconda della sorgente luminosa e del colore della luce. Riserbandomi di esporre in altra pubblicazione i risultati definitivi, accenno ora soltanto che le colture più ricche di pigmento si hanno nel rosso e nel giallo, le meno colorate nel verde e violetto. La luce solare e la luce elettrica diminuiscono il pigmento nelle colture; meno la luce naturale diffusa e la luce del gas. La luce fredda e l'oscurità si comportano analogamente nell'aumentare il potere cromogeno.

Dalle serie di osservazioni suesposte si può concludere che la luce, al contrario di quanto succede per le altre manifestazioni di vita dei batteri, esercita un'azione stimolante sulla produzione della fosforescenza dei batteri luminosi. Tale fenomeno si potrebbe mettere in relazione, con quello che si verifica per i corpi fosforescenti del regno minerale (solfato di bario, di calcio, di stronzio ecc.) ch'esposti alla luce si sovraccaricano di energia fosforescente, tanto più intensa e duratura, quanto più viva è la sorgente luminosa e quanto più prolungata n'è l'esposizione. Non tutti i raggi dello spettro si comportano allo stesso modo nel meccanismo d'azione: i raggi estremi rossi e violetti aumentano la fosforescenza al pari della luce bianca, i raggi medi (gialli, verdi, azzurri) la diminuiscono. I raggi emessi dalla sostanza fosforescente sono meno o tutto al più ugualmeate rifrangibili dei raggi eccitatori, giusto il principio che si verifica sempre in fisica, della degradazione dell'energia. La luce solare aumenta il potere fosforescente, perchè più ricca di raggi chimici e ultravioletti; seguono poi per ordine decrescente la luce elettrica, la luce del gas, la luce naturale diffusa, la luce fredda e l'oscurità.

Nel caso nostro i raggi rossi si comportano presso a poco come i violetti sul photobacterium, molto probabilmente per un fenomeno di calcescenza, secondo il quale alcuni corpi si rendono luminescenti, anche se colpiti da raggi calorifici oscuri dello spettro.

Il potere cromogeno riscontrato nel bacillo fosforescente e la costante sostituzione alla fosforescenza del pigmento rosso nelle colture

nel 2° periodo di sviluppo, dimostrano che tra le due sostanze la batteriopurpurina e la luciferina, ritenute entrambe come prodotto di secrezione della cellula batterica, deve esistere una certa affinità biochimica, ancora non bene studiata, sebbene si comportino diversamente rispetto all'influenza della luce bianca e delle varie radiazioni dello spettro.

Firenze, 22 luglio 1906.

BIBLIOGRAFIA.

GEISSLER. — *Zur Frage über die Wirkung des Lichtes auf Bakterien.* (*Centralblatt für Bakter.*, 1892).

LAURENT. — *Annales de l'Institut Pasteur*, 1890.

GESSARD. — *Annales de l'Institut Pasteur*, 1890 e 1891.

FOÀ E CHIAPPELLA. — *Ricerche sopra un nuovo microrganismo fosforescente.* (*Lo sperimentale*, archivio di biologia normale e patologica, anno LVII, fasc. 3°, 1903).

TANTURRI N. — *Annali di medicina navale*, 1903, vol. II, pag. 5.

LUDWIG F. — *Ueber die spektroskopische Untersuchung photogener Pilze.* (*Zeitschrift f. wissensch. Mikrosk.*, B d. I).

LASSAR O. — *Die Mikrokokken der Phosphorescenz* (*Archiv. f. die ges. Physiologie*, Bd. XXI).

PFLÜGER. — *Ueber die Phosphorescenz verwesender Organismen.* (*Archiv. f. die ges Physiol.*, Bd. XI).